

УДК 576.895.421

**СТРОЕНИЕ ЖЕЛЕЗ ПОРОВЫХ ПОЛЕЙ (AREA POROSA)
У ЕВРОПЕЙСКОГО ЛЕСНОГО КЛЕЩА *IXODES RUCINUS* (L.)
(IXODIDAE, IXODINAE)**

© С. А. Леонович

Зоологический институт РАН
Университетская наб., 1, С.-Петербург, 199034
E-mail: leonssa@mail.ru
Поступила: 09.11.2014

Методами растровой и трансмиссивной электронной микроскопии показано, что поровые поля на гнатосоме *Ixodes ricinus* (L., 1758) представляют собой скопления выводных протоков отверстий желез. Каждая железа образована двумя клетками: железистой клеткой, характеризующейся высокой секреторной активностью, и клеткой протока. Разницы в строении желез у самцов и самок не обнаружено. Обсуждаются вопросы, связанные с функциональным значением исследованных структур.

Ключевые слова: железы, поровые поля, электронная микроскопия, *Ixodes ricinus*.

Европейский лесной клещ *Ixodes ricinus* (L., 1758) — широко распространенный в Европе и европейской части России вид, приуроченный к смешанным и широколиственным лесам, переносчик множества опасных трансмиссивных инфекций, таких как клещевой энцефалит, боррелиоз эрлихиоз, бабезиоз, и др. (Балашов, 1998). На северо-западе России северная граница его распространения проходит через Ленинградскую обл. и Карелию, где он часто встречается совместно с другим опасным переносчиком — таежным клещем *I. persulcatus* Schulze, 1930 (Филиппова, 1977). Важное практическое значение этого клеща определяет интерес к его разносторонним исследованиям.

Несмотря на большое количество публикаций, посвященных изучению экологии, морфологии, физиологии и биологии клеща *I. ricinus*, строение его многих морфологических структур остаются мало исследованными. Это, в частности, относится к строению железистого аппарата клеща и железам поровых полей.

Поровые поля (area porosa) представляют собой морфологически обособленные структуры, располагающиеся на дорсальной поверхности базального отдела гнатосомы иксодовых клещей. Поровое поле выглядит, как округло-овальное образование, сформированное компактно расположенными отверстиями в кутикуле основания гнатосомы (рис. 1, А, см. вкл.). Долгое время считалось, что поровые поля выполняют рецепторную функ-

цию, пока нами не было показано, что эти поля сформированы выводными отверстиями протоков желез (Леонович, 1983). До сих пор во многих руководствах, особенно размещенных в Интернете, указывается, что поровые поля характерны исключительно для самок и отсутствуют у самцов, хотя в действительности они присутствуют у представителей обоих полов, хотя у самцов, как правило, меньшего размера и с менее четкими границами (Филиппова, 1997). Функциональное значение желез поровых полей до сих пор остается невыясненным.

Среди иксодовых клещей строение поровых полей исследовано у двух представителей подсем. Amblyomminae: *Rhipicephalus evertsi evertsi* (Gothé et al., 1987) и *Haemaphysalis longicornis* (Kakuda et al., 1995). Второе подсемейство иксодовых клещей — Ixodinae, представленное в мировой фауне единственным родом *Ixodes*, остается неизученным. По нашему мнению, изучение строения желез поровых полей у представителя подсемейства Ixodinae позволит заполнить существующий пробел в наших знаниях о функции и строении этих образований, присущих практически важной группе клещей — переносчиков трансмиссивных инфекций.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Клещи *Ixodes ricinus* были собраны автором в окрестностях г. Ческе Будеювице (Чехия) летом 2007 г. и тогда же зафиксированы с целью электронно-микроскопических исследований. Часть зафиксированных клещей была взята из лабораторной культуры Института паразитологии Чешской Академии наук. Для исследования в трансмиссивном электронном микроскопе живых клещей препарировали под слоем фиксирующей жидкости (отрезали гнатосому) и фиксировали в 1%-ном растворе глутаральдегида в 0.1 М фосфатном буфере; после промывки в том же буфере дофиксировали 1%-ным раствором четырехокси осмия в 0.1 М фосфатном буфере. Заливку проводили в смесь смол Аралдит, тонкие срезы изготавливали на ультрамикротоме LKB-III (Швеция). Материал исследовали и фотографировали в трансмиссивном электронном микроскопе Tesla-500. С части блоков были изготовлены полутонкие срезы, окрашенные толудином и исследованные в светооптическом микроскопе Leica. Всего были исследованы 4 самки и 2 самца. Для исследования в растровом электронном микроскопе использовали клещей, фиксированных в 70%-ном спирте. Спиртовой материал обезживали в серии спиртов, переводили в ацетон и высушивали в установке Critical Point Dryer HCP-2 (Япония) с использованием жидкой углекислоты в качестве агента. Все препараты предварительно очищали в ультразвуковой ванне (D-300, Россия). Высушенных клещей наклеивали на столики-подложки при помощи двусторонне-липкой ленты, напыляли платиной (Eiko-5, Япония) и исследовали в сканирующем электронном микроскопе Hitachi S-570. Всего в сканирующем микроскопе были исследованы 14 самок и 12 самцов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Поровые поля у самок *I. ricinus* располагаются на дорсальной поверхности гнатосомы и представляют собой скопления выводных протоков желез, выглядящих как пористая пластинка на дне обширного углубления овально-грушевидной формы (рис. 1, *A, B*, см. вкл.). Количество отверстий желез у изученных нами экземпляров самок варьировало от 149 до 186 (164 ± 14). У самцов поровые поля развиты значительно слабее, выглядят как скопления немногочисленных пор на дорсальной поверхности гнатосомы (рис. 1, *B*). Поры не погружены в общее углубление, а располагаются на поверхности *basis capituli* открыто (рис. 1, *B, Г*). В некоторых случаях граница между поровыми полями левой и правой сторон хорошо выражена (рис. 1, *B*), в некоторых случаях она практически отсутствует (рис. 1, *Г*). Количество отверстий выводных протоков желез на порядок меньше в сравнении с самками, варьируя от 9 до 17 (в отдельном поле) (12 ± 4). Наружное отверстие протока выглядит, как округлое углубление, на дне которого виден выступ с вершинной щелью, сформированной кутикулярными «губами», замыкающими отверстие протока (рис. 1, *Г, Д*). Эти своеобразные клапаны сформированы кутикулой, секретированной клеткой протока (рис. 2, *A*, см. вкл.). Подобное строение апикального отдела протока обнаружено в поровых полях *Haemaphysalis longicornis* (Kakuda et al., 1995), а также в некоторых типах дермальных желез иксодовых клещей (Coons, Alberti, 1999; Kaufman, 2014).

Каждая железа, проток которой открывается отдельным отверстием на поровом поле, сформирована двумя клетками: железистой клеткой и клеткой протока (рис. 2, *A—Г*). Главное отличие от изученных ранее желез поровых полей амблиоммин заключается в том, что с каждой клеткой протока ассоциирована единственная железистая клетка (рис. 2, *Б*). У изученного *Haemaphysalis longicornis*, относящегося к подсем. Amblyomminae, клетка протока объединяет несколько железистых клеток, на срезах, образующих своеобразную «розетку» (Kakuda et al., 1995). Таким образом, строение желез поровых полей в обоих подсемействах Ixodidae различается довольно существенно.

Изучение желез поровых полей самцов показало, что они не отличаются от желез самок по строению клеточных отделов, но различаются лишь количеством и плотностью расположения отдельных желез у самок, образующих густые поровые поля (рис. 1, *Б*), а у самцов поля относительно разреженные (рис. 1, *Б, Г*).

Клетка протока железы характеризуется светлой цитоплазмой и небольшим округлым ядром, расположенным в районе прикрепления клетки протока к собственно железистой клетке (рис. 2, *Б, В*). Проток железы выстлан микроворсинками (рис. 2, *А*), которые апикальнее заменяются кутикулярной выстилкой, образующей запирающий клапан (рис. 1, *А*). Каждая клетка протока жестко крепится к одноклеточной железистой клетке глубоко заходящим воротничком (рис. 2, *В*), видимо, сохраняющим целостность железистой клетки при питании и связанном с питанием ростом кутикулы.

Железистая клетка обладает более темной цитоплазмой, хотя и кажется светлее из-за многочисленных секреторных вакуолей (рис. 2, *Б*). Можно высказать предположение, что секрет желез поровых полей достаточно ле-

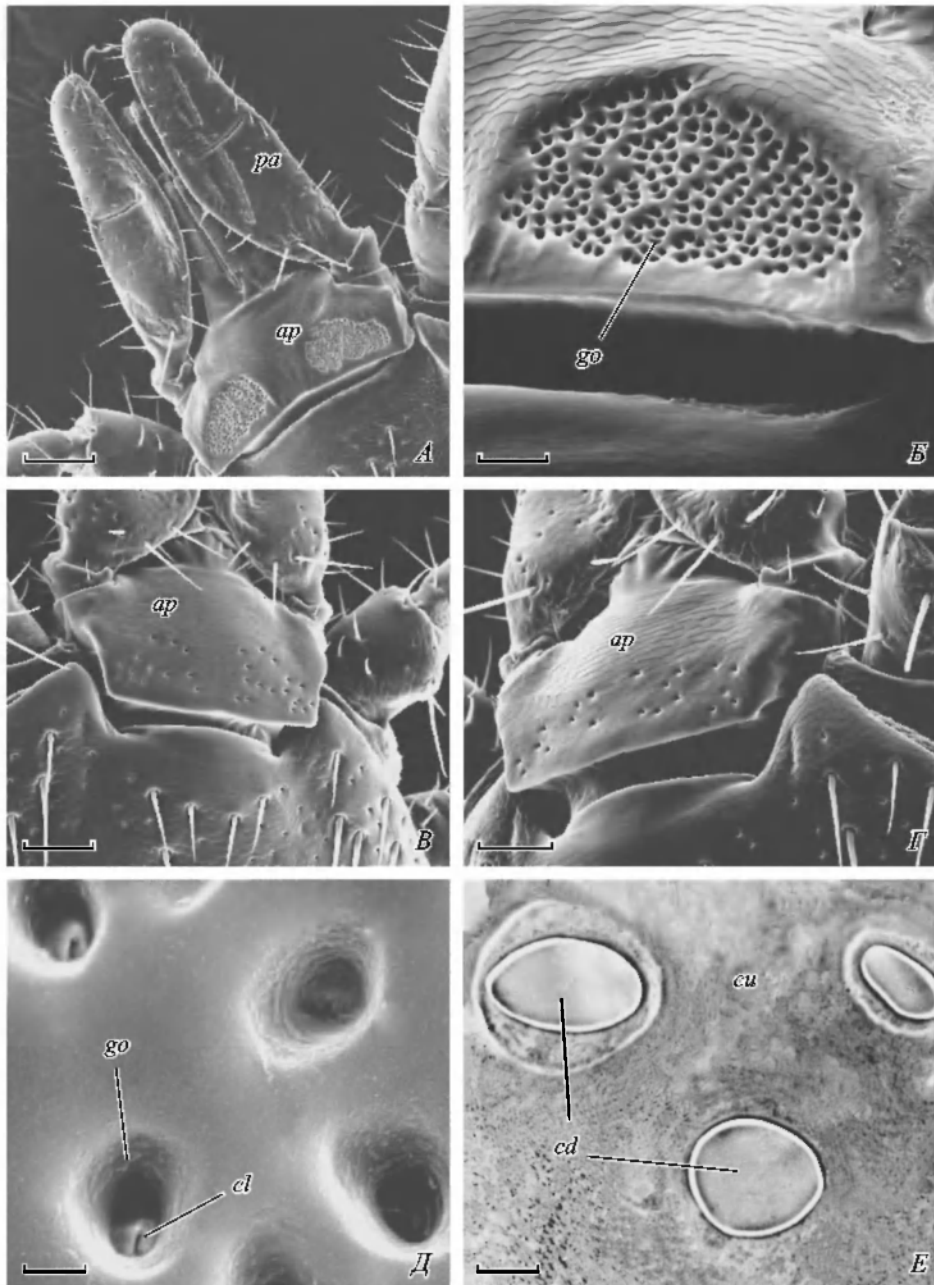


Рис. 1. Поровые поля (area porosa) самок (А, Б) и самцов (Б, Б') клеща *Ixodes ricinus* и наружные отверстия протоков желез поровых полей (Д, Е).

А — гнатосома, вид сверху; Б — поровое поле при большем увеличении; Б, Б' — основание гнатосомы разных экземпляров самцов; Д — отверстия желез порового поля; Е — поперечный срез протоков желез в кутикулярной области. *ap* — поровое поле, *cd* — проток в кутикуле гнатосомы, *cl* — кутикулярная складка протока железы, *cu* — кутикула, *go* — наружное отверстие протока железы, *pa* — пальпа. Масштабные линейки, мкм: А — 100; Б — 20; Б, Б' — 40; Д, Е — 1.

Fig. 1. Porous areas on gnathosoma of females (А, Б) and males (Б, Б') of the tick *Ixodes ricinus* and orifices of associated glands (Д, Е).

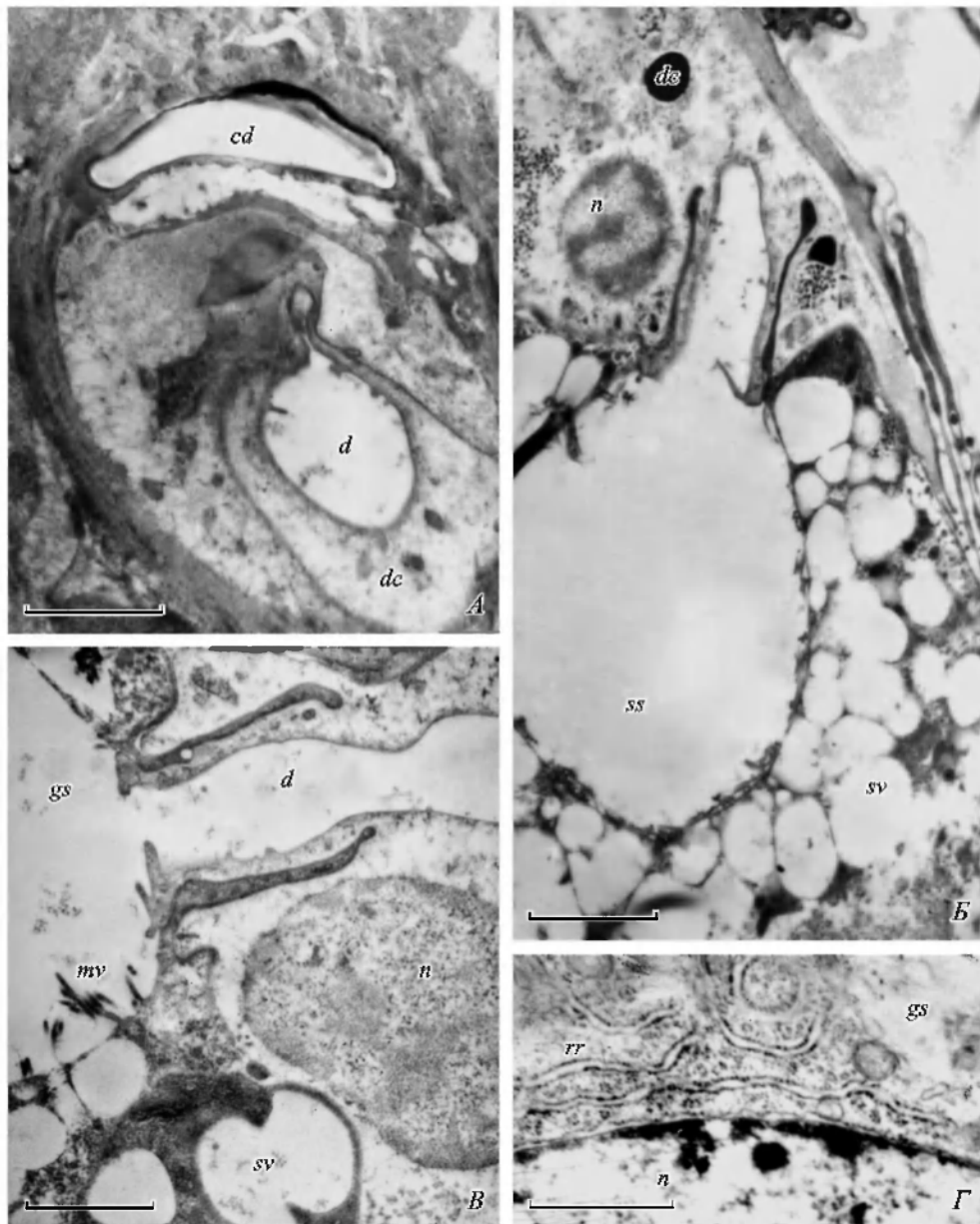


Рис. 2. Строение железистых клеток (*gs*) и клеток протока (*dc*) желез поровых полей клеща *Ixodes ricinus*.

A — проток железы в районе запирающей складки, *Б* — продольный срез железистой клетки, *В* — место крепления железистой клетки и клетки протока, *Г* — шероховатый эндоплазматический ретикулум железистой клетки в области между ядром и секреторными вакуолями. *d* — проток железы, *dc* — клетка, формирующая проток, *gs* — железистая клетка, *mv* — микроворсинка. *n* — ядро, *rr* — шероховатая эндоплазматическая сеть, *sv* — секреторная вакуоль. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1. Масштабные линейки, мкм: *A—B* — 2; *Г* — 1.

Fig. 2. Fine structure of glandular and duct cells of glands forming porous areas in *Ixodes ricinus*.

туч («светлые») вакуоли железистой клетки могут появиться в результате вымывания липидного содержимого в ходе процедур фиксации клещей для электронной микроскопии). Так, в железах фовеальных ямок иксодовых клещей, в липидных вакуолях растворен летучий половой феромон 2-6-дихлорофенол (Sonenshine, 2006). Кроме секреторных вакуолей, железистая клетка имеет обширную предвершинную полость (вакуоль), переходящую непосредственно в проток железы через воротничковое соединение с клеткой протока (рис. 2, В). Секреторные вакуоли, даже находящиеся в непосредственной близости от предвершинной полости, непосредственно с ней не контактируют, будучи отделены тонким слоем цитоплазмы, несущим микроворсинки (рис. 2, Б, В). Мы исследовали голодных особей европейского лесного клеща и тем не менее обнаружили, что секреторная активность железистых клеток довольно высока. В частности, на это указывает обилие секреторных вакуолей и наличие развитого шероховатого эндоплазматического ретикулума (рис. 2, Б, Г). Иными словами, непосредственной связи секреторной активности с питанием, как это было обнаружено у *Rh. evertsi evertsi* (Gothe et al., 1987) и *H. longicornis* (Kakuda et al., 1995) в данном случае не наблюдается. В целом, строение желез поровых полей у *I. ricinus* напоминает строение дермальных желез, ассоциированных с перитремами, изученными у того же вида (Suppan et al., 2013). Однако один проток в последнем случае объединяет 2 железистые клетки (Suppan et al., 2013). Секреторный отдел железистой клетки немного напоминает строение подобного отдела в железах 2-го типа, исследованных у *Hyalomma asiaticum* (Amosova, 1983).

Функциональное значение поровых полей до сих пор остается неустановленным. Некоторые авторы на основании того, что железы поровых полей у клещей-амблиоммин активно секретируют после питания и то, что поровые поля сильнее развиты у самок, считают, что эти железы выделяют секрет, обволакивающий продуцируемые самками яйца (Gothe et al., 1987; Kakuda et al., 1995). Однако яйца во время яйцекладки покрываются восковой оболочкой, выделяемой органом Жене, что является совершенно достаточным для выживания яиц и последующего вылупления личинок (Sonenshine, Roe, 2014). Кроме того, эти железы активны у голодных *I. ricinus*, что не позволяет связать их работу с яйцекладкой, происходящей после насыщения самки кровью в ходе многодневного питания. Таким образом, роль секрета желез поровых полей остается неясной. Можно предполагать, что этот секрет играет роль в работе феромонной системы, но это предположение нуждается в проверке в ходе специальных опытов и в дальнейших исследованиях.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор благодарен Франтишеку Дусбабеку (František Dusbabek) и Бланке Калиновой (Blanka Kalinova) за возможность выполнения работы на базе Института паразитологии (Ceské Budějovice, Czech Republic) и Института органической химии и биохимии Чешской Академии наук (Прага, Чехия), а также Эдвину Боуману (Edwin A. P. Bouman, Bennekom, the Netherlands) за неоценимую помощь в сборе материала.

Список литературы

- Балашов Ю. С. 1998. Иксодовые клещи — паразиты и переносчики инфекций. СПб.: Наука. 287 с.
- Леонович С. А. 1983. О железистой природе поровых полей на гнатосоме иксодовых клещей (Ixodidae). Паразитология. 17 (1): 73—74.
- Филиппова Н. А. 1997. Иксодовые клещи подсемейства Amblyomminae. В сер. Фауна России и сопредельных стран. Паукообразные, 4 (5). СПб.: Наука. 430 с.
- Филиппова Н. А. 1977. Иксодовые клещи подсемейства Ixodinae. В сер. Фауна СССР. Паукообразные. 4 (4). Л.: Наука. 386 с.
- Amosova L. I. 1983. Integument. In: Yu. S. Balashov (ed.). An atlas of ixodid tick ultrastructure. Entomological Society of America Special Publication. 23—58.
- Coons L. B., Alberti G. 1999. The Acari-ticks. In: F. W. Harrison, R. Foelix (eds). Microscopic anatomy of invertebrates. Chelicerate Arthropoda, 8B. New York, Wiley—Liss. 267—514.
- Göthe R., Göbel E., Neitz A. W. H. 1987. Histology and ultrastructure of the glands associated with the porose areas on the gnathosoma of *Rhipicephalus evertsi evertsi*, before and during oviposition. Experimental and Applied Acarology. 3: 255—265.
- Kakuda H., Mori T., Shiraishi S. 1995. Ultrastructure of the porose areas and their accessory glands in *Haemaphysalis longicornis* (Atari: Ixodidae). Journ. of the Faculty of Agriculture, Kyushu University. 40 (1—2): 209—221.
- Kaufman W. R. 2014. Integument and ecdysis. In: D. E. Sonenshine, R. M. Roe (eds). Biology of ticks, 2, Oxford University Press. 99—121.
- Sonenshine D. E. 2006. Tick pheromones and their use in tick control. Annual Review of Entomology. 51: 557—580.
- Sonenshine D. E., Roe R. M. 2014. External and internal anatomy of ticks. In: D. E. Sonenshine, R. M. Roe (eds). Biology of ticks. Vol. 2, Oxford University Press. 74—98.
- Suppan J., Walzl M., Klepal W. 2013. The spiracle glands in *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) (Acari: Ixodidae). In: P. Schausberger (ed.). Acari in a Changing World: Proceedings of the 7th Symposium of EURAAC. Vienna, 2012, Acarologia. 53 (2): 221—230.
- Walker A. R., Lloyd C. M., McGuire K., Harrison S. J., Hamilton J. G. C. 1996. Integumental glands of the tick *Rhipicephalus appendiculatus* (Acari: Ixodidae) as potential producers of semiochemicals. Journ. of Med. Entomol. 33: 743—759.

FINE STRUCTURE OF GLANDS FORMING POROUS AREAS (AREA POROSA) IN THE EUROPEAN FOREST TICK *IXODES RUCINUS* (L.) (IXODIDAE, IXODINAE)

S. A. Leonovich

Key words: glands, area porosa, electron microscopy.

SUMMARY

The use of scanning and electron microscopy methods has shown that porous areas (area porosa) on the gnathosoma of *Ixodes ricinus* are formed of cuticular orifices of bicellular glands. Each gland is formed of a duct cell and a glandular cell, characterized by high degree of secretory activity. No difference in the gland structure between females and males were revealed. Questions associated with a probable function of these glands are discussed.